

## **RECOLECCIÓN, EVALUACIÓN Y CONSERVACIÓN DE SEMEN EQUINO**

La diferencia más interesante entre el servicio natural y la inseminación artificial radica en el número de veces que el padrillo eyacula por día. Bajo servicio natural el eyaculado de un padrillo no puede subdividirse en varias dosis inseminantes, por eso es frecuente que un padrillo muy “popular” sirva a 2 ó 3 yeguas por día, los 7 días de la semana durante el pico de la estación reproductiva. De esta manera el manejo de las yeguas presenta características críticas: la ovulación debe ser lo más cercana posible al servicio. Esto ayuda a prevenir el sobre-uso del padrillo.

En años recientes, la inseminación artificial se ha transformado en una clave importante de los programas de reproducción equina, ya que cada vez más registros de raza permiten su implementación. Desgraciadamente, dentro de las asociaciones que no permiten su uso se encuentra la que nuclea al Sangre Pura de Carrera.

Las ventajas de la inseminación artificial sobre el servicio natural son numerosas y podemos resumirlas así:

- La inseminación artificial permite el uso más eficiente del semen. El eyaculado puede dividirse en varias dosis para cubrir varias yeguas. Así se incrementa el número de yeguas servidas por un padrillo durante una estación reproductiva.
- El uso de diluyentes de semen (semen extender) incrementa los porcentajes de preñez de padrillos subfértiles.
- La adición de antibióticos al diluyente reduce la transmisión potencial de enfermedades bacterianas venéreas.
- La recolección de semen para la inseminación artificial usando un súcubo artificial o maniquí reduce el riesgo de accidentes.
- La recolección de semen con vagina artificial permite un examen exhaustivo de la calidad seminal antes de la inseminación.
- El semen diluido puede ser preservado por períodos prolongados de tiempo y ser transportado a distancia del lugar de la recolección.

El proceso de recolección de semen constituye una parte vital de los programas de inseminación artificial. Una vez obtenido, el semen debe ser inmediatamente inseminado o preservado; cualquier exposición a un ambiente hostil puede ocasionar efectos deletéreos sobre la capacidad fertilizante de los espermatozoides. De esto se desprende lo extremadamente importante que es la manipulación cuidadosa del semen eyaculado.

### **RECOLECCION DE SEMEN EQUINO.**

#### ***Selección de la vagina artificial.***

El procedimiento de recolección de semen se puede realizar fácilmente utilizando una vagina artificial (V.A.). La correcta selección de la V.A. es fundamental tanto en el proceso de recolección como de evaluación de semen. En el momento de elegir una, deben tenerse en cuenta no sólo las conveniencias en cuanto a sus características y costos sino también la preferencia del padrillo.

El modelo Missouri se encuentra ampliamente difundido por ser muy accesible económicamente, es liviana, fácil de manejar y relativamente fácil de limpiar. Se compone de una doble camisa de látex permanentemente sellada que funciona como cámara de agua. Una carcasa de cuero envuelve dicha camisa para facilitar su manipulación. Está equipada con una válvula que permite colocar agua sola, aire solo o la combinación de los dos para reducir su peso. El mantenimiento de la temperatura adecuada durante la recolección no es tan eficaz como en otros modelos de V.A. Lo importante es que en este modelo de VA los espermatozoides no están en contacto con la superficie caliente de la camisa de látex.

El modelo Nishikawa, japonés, consta de un tubo metálico rígido de aluminio y una simple camisa de látex entre los cuales queda conformada la cámara de agua. Este modelo es de fácil manejo y limpieza aunque ligeramente más pesada que la anterior. La camisa debe ajustarse bien en ambos extremos mediante bandas de goma fuertes para evitar filtraciones de agua con la consecuente contaminación de la muestra.

El modelo original de Colorado consta de una cubierta de material plástico duro y dos camisas de látex que componen la cámara de agua. De esta manera se logra un buen mantenimiento de la temperatura. Debido a que el largo de la vagina es mayor al del pene, el eyaculado entra en contacto con la temperatura interna dañando por calor los espermatozoides. Se han hecho modificaciones a este modelo con el fin de hacerlo más liviano y fácil de manipular: es el modelo CSU (Colorado State University).

Los modelos de V.A. antes citados son comúnmente llamados “cerrados” debido a que con ellos se obtiene una muestra de semen que contiene tanto la fracción espermática como la fracción de plasma seminal, es decir, el eyaculado completo. Con el objetivo de aumentar la concentración espermática recolectando sólo los primeros pulsos (jets) del eyaculado, en Polonia desarrollaron un modelo de V.A. “abierto” (modelo Krakow), en donde el glande se exterioriza en el extremo posterior y puede recolectarse sólo la fracción del eyaculado rica en espermatozoides (tres primeros jets). Así se obtiene del 75-80% de los espermatozoides presentes en una muestra con cerca del 50% del volumen total. La recolección de semen con este método reduce la contaminación de la muestra con orina y/o bacterias.

Una alternativa poco usada es la recolección empleando un condón. Generalmente la muestra obtenida es de menor calidad que aquella obtenida mediante V.A. ya que se produce gran contaminación con bacterias y detritus provenientes de la superficie externa del pene. Sin embargo es una buena elección cuando se trata de padrillos acostumbrados al servicio natural y que nunca han sido entrenados a saltar con V.A..

#### ***Mantenimiento y limpieza de la V.A.***

Todos los elementos de la vagina usados deben ser enjuagados con agua corriente templada, empleando un detergente neutro, para uso de laboratorio, que no deje residuos químicos que pueden resultar tóxicos y espermicidas. Luego del lavado para remover los restos de suciedad y de lubricante, se deben enjuagar con agua destilada por lo menos tres veces y sumergir en alcohol etílico 70° por el término de dos horas. Para el secado se recomienda colgar las camisas en un gabinete cerrado para evitar que en ellas se deposite polvo. Pueden esterilizarse mediante óxido de etileno teniendo la precaución de ventilarlas por un período no inferior a 48-72 horas antes de volver a usarlas.

#### ***Preparación de la V.A.***

El agua con que se completa la cámara de agua debe tener una temperatura de 50-54°C, de manera que la temperatura interna sea de 42-45° C. Es sumamente importante que la temperatura sea medida mediante un termómetro y nunca sea “estimada”; si la temperatura es inferior a la citada no habrá suficiente estímulo para la eyaculación y si es superior se podrá “quemar” al padrillo con los consecuentes trastornos en su conducta sexual.

La cantidad de agua a colocar debe acomodarse al tamaño del pene de manera tal que la presión sea uniforme a lo largo de toda la V.A. y no dificulte la penetración y erección completa del pene. Si la presión es excesiva no permitirá la correcta intromisión del pene con lo cual el semen tomará contacto con las paredes de la V.A. a altas temperaturas y se alterará la calidad de la muestra.

La superficie interna de la camisa debe lubricarse con algún elemento no espermicida, tal como gel estéril (K-J lubricating jelly), la vaselina sólida daña la camisa de látex.

El eyaculado debe protegerse de la luz y mantenerse a temperatura corporal hasta ser transportado al laboratorio.

La filtración del eyaculado pos-recolección es esencial para separar la porción de gel de la porción rica en espermatozoides; esto puede hacerse mediante un trozo de gasa o aspirando el

gel con jeringa. Algunos modelos de V.A. traen botellas recolectoras con filtros incorporados que permiten realizar la operación de filtrado al mismo tiempo que la recolección.

### ***Recolección del semen***

Para la recolección de semen equino puede utilizarse como súcubo una yegua en celo natural o una yegua ovariectomizada mantenida con altos niveles de estrógenos exógenos (1-2 mg cipionato de estradiol, ECP, vía intramuscular semanalmente). También pueden utilizarse súcubos artificiales, para los cuales el padrillo debe estar entrenado. Estos dos últimos métodos permiten disponer de un súcubo aún en la temporada anovulatoria.

Previo a la recolección, el pene del padrillo debe ser examinado para detectar posibles lesiones. Para lograr la exteriorización del pene, se presenta la yegua al padrillo de modo que ni ella, ni el macho ni el personal corran peligro y puedan realizarse las maniobras apropiadamente. Una vez que se exteriorizó el pene, el operador lo toma con una mano, lo desvía y con la otra comienza la limpieza con agua tibia (a 37 ° C) y algodón sin agregado de jabón ni desinfectantes ya que los mismos remueven la flora bacteriana normal y permite el crecimiento de microorganismos patógenos, por ejemplo *Pseudomona aeruginosa*.

Muchas veces es deseable realizar un análisis bacteriológico previo a la recolección de semen para descartar una infección del tracto genital del macho.

La toma de muestras para cultivo debe hacerse antes del lavado del pene. Se toman cuatro muestras: a) de la superficie del pene; b) de la fosa del glande; c) de la uretra pre recolección y d) de la uretra pos recolección.

Los hisopos deben remitirse al laboratorio en medio de transporte, por ejemplo Stuart.

Generalmente la yegua usada para la recolección tiene una buena sujeción consistente en trabones, bozal y mordaza, para evitar que el padrillo sea lastimado. Las patadas durante la recolección de semen, además de producir una respuesta sexual negativa, pueden causar traumatismo de pene, prepucio o testículo.

La cola de la hembra debe ser prolijamente cubierta con una venda o guante largo ya que los pelos pueden enredarse y causar lesiones del pene durante el procedimiento. Debe evitarse en la medida de lo posible que el padrillo actúe agresivamente durante la monta; para esto puede manejárselo con una cadena agregada al bozal. Todos los padrillos son diferentes y todos los padrilleros son diferentes. La habilidad del personal para manejar al padrillo de manera que se logre una respuesta sexual favorable con un mínimo de dificultades es un arte. Esta es la clave de muchos problemas de comportamiento sexual en padrillos.

El operador encargado de recolectar el semen debe colocarse generalmente del lado izquierdo junto con el personal que maneja al padrillo. Debe estar muy atento a las reacciones tanto de la hembra como del macho.

Sólo cuando el macho logra la erección, se le permite montar a la yegua o súcubo. El operador desvía el pene y presenta la V.A. al padrillo para que mediante el reflejo de búsqueda, logre él mismo la intromisión. Es conveniente proporcionarle una posición confortable para lograr una máxima estimulación.

Con la mano izquierda se sostiene la V.A. apoyándola contra la hembra y la mano derecha se coloca en ventral del pene con el objeto de palpar las pulsaciones asociadas con la eyaculación. La palpación de estas pulsaciones junto con el flameo de la cola durante la eyaculación y la presencia de restos de semen o gel en el orificio uretral una vez terminada la recolección, y pérdida de la erección evidencian que la eyaculación se ha llevado a cabo. Inmediatamente después de retirada la V.A. debe colocarse ésta en posición vertical y permitir la salida de agua a través de la válvula para dejar que el semen que haya quedado en porciones altas de la vagina drene hacia la bolsita o botella recolectora.

## EVALUACION DEL SEMEN

Una vez obtenido el eyaculado debe ser transportado lo antes posible al laboratorio protegiéndolo de la luz solar, y el shock por frío. Todos los elementos utilizados para la evaluación deben estar pre calentados a 37° C.

### *Observación y filtrado.*

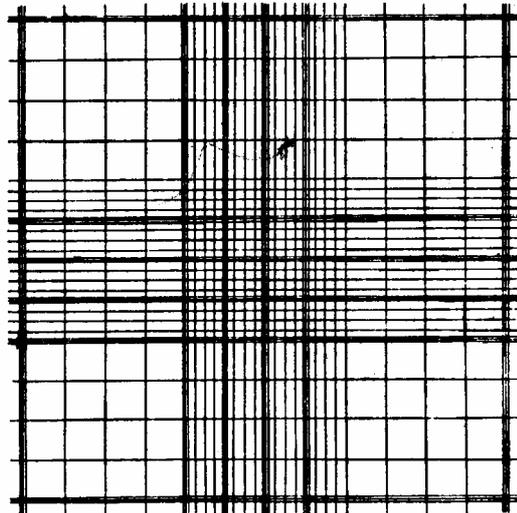
El primer paso es el filtrado de la muestra para eliminar posibles detritus y la porción gelatinosa. Se observa el color, densidad y volumen de la porción libre de gel y el volumen de la porción gelatinosa. El volumen por sí mismo no posee correlación positiva con la fertilidad, pero se utiliza para calcular el número total de espermatozoides. El examen del color permite observar la presencia de sangre, orina o material purulento en el eyaculado.

### *Concentración espermática.*

El cálculo del número total de espermatozoides es importante ya que éste es uno de los parámetros más usados para estimar la fertilidad de un padrillo aunque esté sujeto a múltiples factores de variación, como por ejemplo: estación del año, frecuencia de servicios, edad, tamaño testicular, etc.

El número total de espermatozoides se obtiene por la multiplicación de la concentración espermática por el volumen de la porción libre de gel del semen. La concentración puede calcularse mediante un espectrofotómetro o por hemocitometría utilizando una cámara hemocitométrica. Existen distintos modelos de cámara con un reticulado labrado característico, pero todas responden a los mismos principios. Describiremos el modelo de Neubauer por ser el más utilizado. La cámara de Neubauer posee un retículo central para el recuento de glóbulos rojos y un retículo periférico especial para el de glóbulos blancos. El retículo central consta de 16 cuadrados grandes separados entre sí por triples líneas excepto en dos de sus bordes, es decir que 7 cuadrados poseen en uno de los contornos líneas simples. Estos cuadrados grandes están divididos en 16 cuadraditos cada uno. Por lo tanto existen en total 256 cuadraditos cuya superficie individual es de  $1/400 \text{ mm}^2$ .

Fig. 1. Reticulado de la cámara de Neubauer.



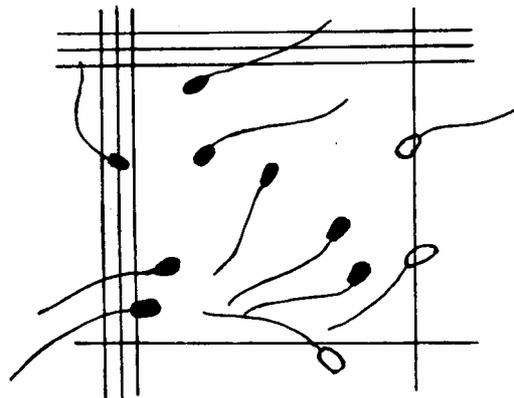
Esta cámara posee dos compartimentos reticulados independientes, por lo tanto se realiza el recuento en las dos cámaras y se promedia el resultado.

El cubre cámara debe adherirse a la superficie de manera tal que en los bordes se observe un fenómeno de difracción de la luz comúnmente denominado “anillos de Newton”. El cubre debe quedar fijo y adherido sin deslizarse. Para realizar el recuento, una alícuota de 20 µl de semen, es diluida con 4 ml (4000 µl) de una solución espermicida que mata los espermatozoides rápidamente (solución formolada o BSF). El grado de dilución es 1/200.

La muestra diluida y bien homogeneizada se carga en una micropipeta y se llena por capilaridad la cámara teniendo cuidado que no pase líquido a los surcos laterales y que no queden burbujas de aire. Si esto ocurriera debe repetirse nuevamente la operación.

Después de esperar 5 minutos se enfoca a 100 x y se comienza el recuento. Se deben contar los espermatozoides contenidos en 80 cuadraditos o sea en 5 cuadrados grandes. Deben contarse los cuadrados grandes separados por triples líneas, evitando los 7 de los bordes que carecen de esta característica (generalmente se eligen los cuatro de las esquinas y uno central tomado al azar). Para estandarizar el conteo, en cada cuadradito chico se contarán los espermatozoides en él contenidos y aquellos cuyas cabezas se encuentren sobre los bordes superior e izquierdo, sin contar los que se encuentran sobre los bordes inferior y derecho. Esto sólo es una regla arbitraria y puede modificarse según la comodidad del operador que realiza el conteo.

Fig. 2. Técnica de recuento de espermatozoides: las células con la cabeza en negro se cuentan y aquéllas con la cabeza blanca, no.



La concentración de espermatozoides se obtiene según la siguiente fórmula:

$$\text{Conc. esp./ mm}^3 = \frac{A \times B \times C \times D \times E}{F}$$

A : número de espermatozoides contados.

B : inversa del tamaño del cuadradito (400 mm<sup>2</sup>)

C : inversa de la dilución realizada (200)

D : altura de la cámara (0.1 mm)

E : 10: se multiplica por 10 para que el resultado quede expresado en 1 mm<sup>3</sup>

F : número de cuadraditos contados (80)

Una fórmula abreviada sería: realizar el conteo en las dos cámaras y promediarlos. Este valor se multiplica por 200 (inversa de la dilución) y por 50 (factor de corrección que incluye la superficie del cuadradito, número de cuadraditos contados y altura de la cámara). Esto es igual a multiplicar el promedio de las dos cámaras por 10.000.

$$\text{Conc. esp./mm}^3 = X \times 200 \times 50$$

$$\text{Conc. esp./mm}^3 = X \times 10000$$

El resultado queda expresado como: número de espermatozoides por mm<sup>3</sup>. Si quisiéramos expresar el resultado por mililitro sólo debemos multiplicar por 1000, es decir por 10<sup>3</sup>.

### ***Movilidad espermática.***

La movilidad espermática refleja la viabilidad de un eyaculado. Por lo general se realiza la estimación visual de la movilidad colocando una gota de semen puro entre porta y cubre objetos y observando sobre platina térmica a 37° C con microscopio óptico. Aunque la estimación es bastante subjetiva, el personal experimentado puede realizar un análisis muy aceptable de la movilidad progresiva. Es interesante comparar y registrar el porcentaje de movilidad progresiva de la muestra sin diluir y luego del agregado de diluyente.

La supervivencia del eyaculado puede evaluarse manteniendo el mismo a una temperatura entre 20-25 ° C con y sin agregado de diluyente y observar como varía la movilidad progresiva en función del tiempo. También puede almacenarse una alícuota de semen diluido a una temperatura entre 4-5° C; generalmente el agregado de diluyente puede preservar la muestra entre 24-48 horas (semen refrigerado).

### ***Morfología espermática.***

Para la evaluación de la morfología espermática se realizan extendidos sobre un porta objetos y se dejan secar al aire. Existen distintas tinciones para realizar sobre estos extendidos: Casarett, Wright's, May Grunwald-Giemsa, hematoxilina-eosina, nigrosina, Diff-Quick, etc. Permiten visualizar no sólo células espermáticas sino también células germinales inmaduras y somáticas. Otro método para observar morfología es tomar una alícuota de la muestra y fijarla en solución salina formolada bufferada (BSF) o solución bufferada de glutaraldehído. Esta técnica permite transportar la muestra y preservarla por tiempo prolongado si no se puede realizar la lectura en el momento. Las muestras así fijadas se deben observar con ayuda de un microscopio de contraste de fase o de contraste diferencial-interferencial (DIC).

Las anormalidades espermáticas pueden clasificarse según el origen de cada una de ellas en: a) primarias: originadas durante el proceso de espermatogénesis, es decir son de origen testicular; b) secundarias: originadas en cualquier sitio del sistema de túbulos que transportan los espermatozoides; c) terciarias: originadas por manipulación incorrecta del semen luego de la recolección. El número total de espermatozoides morfológicamente normales en un eyaculado puede proporcionar más información y correlación respecto de la fertilidad de un padrillo que el porcentaje o el número absoluto de espermatozoides morfológicamente anormales.

## **PRESERVACION DE SEMEN.**

El uso de diluyentes (extender) está ampliamente difundido ya que permite la preservación de la muestra varias horas antes de la inseminación sin afectar significativamente su capacidad fertilizante. Es importante tener en cuenta que el éxito del método depende de la calidad inicial de la muestra.

Los diluyentes pueden agregarse al eyaculado libre de gel, previamente templado a 37° C. Los componentes del diluyente proveen al semen substratos metabolizables, pH y presión osmótica adecuada, compuestos que lo protegen contra el shock frío y antibióticos que reducen la proliferación bacteriana (penicilina G 1000-1500 UI/ml; estreptomycin 1000-1500 µg/ml, gentamicina 100-1000 µg/ml, polimixina B 200-1000 UI/ml, ticarcilina 100-1000 µg/ml o ampicilina 100-1000 µg/ml). A continuación daremos las fórmulas de dos de los diluyentes más utilizados.

### **Diluyente de Kenney I**

Leche descremada (tipo Molico).....	2,4 g
Glucosa.....	4,9 g
Penicilina G cristalina.....	150000 UI
Estreptomycin cristalina.....	150000 µg
Agua destilada c.s.p.....	100 ml

## Diluyente de Kenney II

Leche descremada (tipo Molico).....	2,4 g
Glucosa.....	4,9 g
Sulfato de Gentamicina.....	100 mg
8,4 % NaHCO <sub>3</sub> .....	2 ml
Agua destilada .....	92 ml

(1) Otros antibioticos que pueden utilizarse:

- Ticarcilina/Ac. Clavulanico 1mg/ml
- Amicacina 1 mg/ml

En este caso se recomienda mezclar todos los líquidos antes de agregar la leche ya que la acidez del antibiótico puede hacer coagular esta última.

Para evitar el deterioro rápido de la viabilidad espermática, es conveniente una vez diluida la muestra mantenerla a temperatura (20-22 ° C) hasta el momento de la inseminación.

El diluyente debe proveer un pH compatible con el semen, entre 6.6 y 7.4 preferentemente ligeramente ácido (6.6-6.8) y una osmolaridad que varíe entre 300 y 400 mosm/l.

### ***Transporte de semen refrigerado.***

Con el objeto de preservar la muestra por un período de tiempo mayor, alrededor de 24-48 horas, se puede refrigerar el semen diluido, manteniéndolo a 5° C, mediante una curva de enfriamiento que consiste en la disminución de la temperatura de la muestra a razón de 0.3° C por minuto. La muestra diluida debe tener una concentración de 50 millones de espermatozoides por mililitro.

Este proceso reduce la actividad metabólica, retardando los cambios que llevan al envejecimiento de los espermatozoides (“ageing”). El semen así refrigerado no necesita ser pre calentado antes de la inseminación.

El transporte de semen refrigerado se ha simplificado significativamente gracias al desarrollo de un container comúnmente llamado Equitainer (Hamilton-Thorn Researchs, Danvers M.A.). Este “termo” ha sido diseñado para realizar una curva lenta de disminución de la temperatura que logra 4-5° C en 20-24 horas con una duración máxima de 48 horas.

Los pasos a seguir para refrigerar una muestra de semen son los siguientes:

- a. Recolección del eyaculado.
- b. Filtración para eliminar la porción gelatinosa.
- c. Evaluación macroscópica del eyaculado (Volumen)
- c. Evaluación microscópica del eyaculado (en especial de la movilidad progresiva).
- d. Recuento en cámara.
- e. Dilución del semen con el diluyente.
- f. Evaluación microscópica de la movilidad pos dilución.
- g. Envasado y refrigeración.

*Cálculo de la dilución:* para que la concentración final de espermatozoides en el semen sea de 50 millones por mililitro, se debe calcular primero el factor de dilución. Este se calcula dividiendo la concentración espermática (en millones/ml) por 50 millones/ml.

$$\text{Factor de dilución} = \frac{\text{Concentración espermática (millones / ml)}}{50 \text{ millones/ml}}$$

Si por ejemplo, la concentración espermática es de  $300 \times 10^6$  esp./ml, el factor de dilución obtenido será 6. Por lo tanto deberíamos colocar 1 parte de semen en 5 partes de diluyente ( $1+5=6$ ).

El semen ya diluido se coloca en una bolsa plástica y se cierra evitando en lo posible que queden burbujas de aire en su interior, es decir, tratando de asemejar una situación de anaerobiosis. Esta bolsa se coloca dentro de un vaso plástico; si el volumen de la bolsa con el semen no es suficiente para ocupar todo el receptáculo, se agregan otras bolsas de líquido coloreado que las provee el mismo equipo. Dichas bolsas estarán a la misma temperatura del semen y tienen el objeto de evitar el espacio de aire para que la transmisión de la temperatura sea más efectiva. Se colocan dentro del Equitainer dos latas que contienen líquido refrigerante previamente congeladas  $-20^{\circ}$  C por 24 horas, y arriba de ellas el vaso plástico. Luego se cierra y se transporta.

La preservación de semen mediante refrigeración esta siendo cada vez más usada debido a que puede implementarse un programa de inseminación artificial aún cuando el padrillo se encuentra a distancia considerable de las hembras a inseminar. Es importante tener en cuenta que la inseminación se realiza a la misma temperatura del Equitainer, no se debe precalentar la muestra.

Con el objeto de determinar qué cantidad de semen diluido habrá que depositar en el útero de la hembra, debemos recordar que una dosis inseminante segura es de alrededor de 1000 espermatozoides con movilidad progresiva (dosis inseminante standard: 500 espermatozoides con movilidad progresiva).

Ejemplo :

Se desea inseminar tres yeguas con semen refrigerado.

Se evalúa el eyaculado una vez extraído y filtrado y se obtienen los siguientes datos:

- a) Volumen: 50 ml
- b) Concentración: 300 millones /ml
- c) Motilidad progresiva: 50 %

Se realizan los siguientes cálculos:

- 1) Cálculo del número total de espermatozoides en el eyaculado  
Concentración x Volumen

$$300 \text{ millones de espermatozoides / ml} \times 50 \text{ ml} = 15000 \text{ millones de espermatozoides}$$

- 2) Cálculo del número total de espermatozoides con motilidad progresiva  
Nº total de espermatozoides x % de motilidad progresiva

$$15000 \text{ millones de espermatozoides} \times 50 \% = 7500 \text{ millones de espermatozoides.}$$

- 3) Cálculo de cantidad de dosis en el eyaculado

$$\frac{7500 \text{ millones}}{1000 \text{ millones}} = 7,5 \text{ dosis}$$

- 4) Volumen de la dosis

$$\frac{50 \text{ ml}}{7,5 \text{ dosis}} = 6,6 \text{ ml}$$

5) Cálculo del factor de dilución

$$\frac{300 \text{ millones de espermatozoides / ml}}{50 \text{ millones de espermatozoides / ml}} = 6$$

6 = 1 parte de semen + 5 partes de diluyente

6) Dilución de la dosis inseminante

$$6,6 + 33 \text{ ml} = 39,3 \text{ ml}$$

Serán necesarios en nuestro ejemplo, aproximadamente 40 ml de semen diluido para lograr una dosis inseminante de 1000 millones de espermatozoides con una movilidad progresiva pos refrigeración del 50%.

### ***CONSIDERACIONES FINALES***

La habilidad natural del personal encargado del manejo del padrillo es fundamental para conseguir una buena respuesta sexual en el momento del servicio. Si a esto le sumamos un apropiado método para la recolección de semen, las probabilidades de obtener muestras de alta calidad aumentan significativamente. La manipulación adecuada del semen luego de la recolección es importante para conseguir una mayor viabilidad espermática y así poder incrementar la fertilidad del semen, aún cuando se trate de individuos subfértiles.

Todos estos pasos íntimamente encadenados llevan a un aumento de los porcentajes de preñez y a un aumento de la eficiencia reproductiva.

Los métodos anteriormente citados de evaluación, dilución con “extender” y preservación por refrigeración tienden a mejorar y aprovechar de la mejor manera el eyaculado de un padrillo evitando el agotamiento de sus reservas, lo que llevaría en última instancia a una disminución de su fertilidad.

Afortunadamente cada vez son menos las restricciones impuestas por las asociaciones de razas equinas para la implementación de estas técnicas en el manejo reproductivo equino.